Sonderdruck aus
Verhandlungsbericht der Deutschen Zoologischen Gesellschaft, 65. Jahresversammlung
Gustav Fischer Verlag 1972

Vergleichende Untersuchungen zum Wirkungsspektrum der Carbohydrasen laubstreubewohnender Oribatiden

Carbohydrases in litter oribatid mites

Dietmar Zinkler
Lehrstuhl für Tierphysiologie der Ruhr-Universität Bochum

Abstract

Carbohydrases in homogenates of litter oribatid species (10) differing with respect to their ecology were identified by enzymatic microtests and thin-layer chromatography. Patterns of enzyme activities are correlated with gut content: macrophyte-feeding and omnivorous oribatids are able to attack plant structural polysaccharides by cellulase, carboxymethylcellulase, xylanase and pectinase. Microphytic feeders – with respect to the dominance of maltase and α-amylase activity – seem to digest only intracellular compounds of algae, fungal mycelia and bacteria.

Laubstreubewohnende Oribatiden (Acari, Oribatei) bieten für ernährungsphysiologische Untersuchungen aus ökologischer wie physiologischer Sicht interessante Ansatzpunkte. Obgleich große Individuenzahlen eine wesentliche Beteiligung an den natürlichen Zersetzungsprozessen des Waldbodens vermuten lassen, ist zur Ernährungsbiologie dieser vornehmlich Streu und Detritus verzehrenden Kleinarthropoden – insbesondere über Verdauungsenzyme – bislang nur wenig bekannt geworden (8). Darüber hinaus haben spezifische Lebensbedingungen im Edaphon zur Ausbildung so unterschiedlicher Nahrungsgewohnheiten geführt, daß Auswirkungen auf die Carbohydrasenausstattung ökologisch repräsentativer Oribatidenarten möglich erscheinen.

Die Auswahl von 10 bislang untersuchten Arten aus der Streuschicht eines Würzburger Eichenmischwaldes folgte weitgehend Darminhaltsanalysen von Schuster (5). Innerhalb der Oribatiden wurden daher drei Ernährungstypen berücksichtigt: Bestandesabfall wie Fallaub und Holz verwertende Makrophytenfresser *(Phthiracarus piger, Steganacarus magnus)*, Pilzhyphen, Pilzsporen und Flechtenreste aufnehmende Mikrophytenfresser *(Damaeus auritus, Amerus troisii)* und sowohl mikro- als auch makrophytische Nahrung verzehrende Nichtspezialisten *(Nothrus silvestris, Nothrus palustris, Liacarus subterraneus, Euzetes seminulum)*. Für *Tritegeus bifidatus* und *Eupelops plicatus* liegen vergleichbare Untersuchungen zur Nahrungswahl bislang nicht vor.

Da das Darmsystem der Oribatiden aufgrund ihrer geringen Körpergröße und starken

Chitinisierung präparatorisch für Serienuntersuchungen nicht zugänglich ist, fanden Homogenate ganzer Individuen (0,5–5 mg Tiermaterial in 200 μl 0,6 % NaCl-Lösung) Verwendung. Der Inkubationsansatz zur Bestimmung der Spaltungsaktivität gegenüber verschiedenen Kohlenhydraten bestand aus 20 μl Puffer (McIlvain), 20 μl Substrat (0,3 m) und 20 μl Extrakt. Die Inkubationszeit bei 25° C betrug 30 min für Dissaccharide bzw. 10 Std. (mittlere Dauer der Darmpassage [2]) für Substrate aus pflanzlichem Zellwandmaterial. Um Verfälschungen durch Bakterienwuchs auszuschließen, wurden den Langzeitinkubationen jeweils 20 μl 1%iges Toluol bzw. Leukomycin zugefügt. Für eine qualitative Beurteilung der Hydrolasenaktivität genügten dünnschichtchromatographische Auftrennungen der Inkubationsansätze (3, 6). Die quantitative Bestimmung der freigesetzten Glucose erfolgte enzymatisch (7). Xylose wurde mit Hilfe einer modifizierten Mikromethode bestimmt (4).

Als erster Schritt einer vergleichend quantitativen Aktivitätsprüfung erfolgte die Ermittlung der pH-Abhängigkeit der Spaltung einiger in der Natur weit verbreiteter Disaccharide. Die bislang vorliegenden pH-Kurven zeigen für alle untersuchten Oribatidenarten einen ähnlichen Verlauf. Das Optimum der Spaltung liegt bei pH 5,0 (Abb. 1).

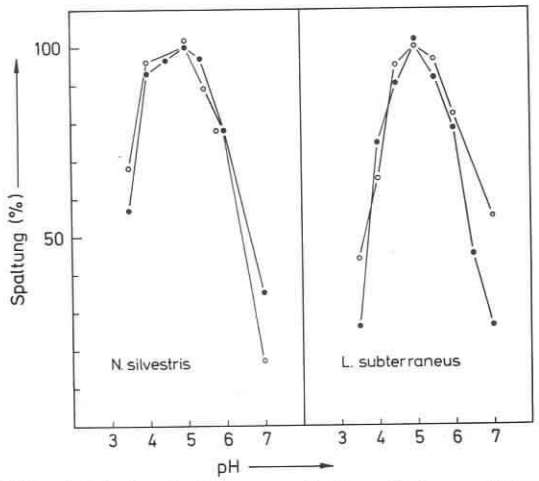

Abb. 1: pH-Abhängigkeit der Spaltung verschiedener Substrate (Mittelwertskurven).
○ —— ○ Maltose-Spaltung ● —— ● Cellobiose-Spaltung

Auf der Basis solcher pH-Kurven wurde sodann die absolute Größe der Spaltung im pH-Optimum in μMol gespaltenem Substrat/g Frischgewicht ermittelt (Abb. 2). Es zeigte sich, daß von den sechs gebotenen Disacchariden (Saccharose, Maltose, Trehalose, Cellobiose, α-Melibiose und Lactose) Maltose und Cellobiose besonders gut hydrolisiert werden. Darüber hinaus ergaben sich interessante Unterschiede im Carbohydrasenspektrum verschiedener Ernährungstypen. Die makrophytophagen Oribatiden *Phthiracarus piger* und *Steganacarus magnus* spalten bevorzugt das β-Glucosid Cellobiose, die Mikrophytophagen *Damaeus auritus* und *Amerus troisii* (s. Tab. 1) dagegen das α-Glucosid Maltose. Der Ernährungstyp der Nichtspezialisten steht dazwischen: *Nothrus silvestris, Nothrus palustris, Liacarus subterraneus* und *Euzetes seminulum* zeigen ausgeprägte Cellobiosespaltung und hydrolisieren zudem Maltose ähnlich gut wie die Mikrophytophagen. Besonders auffällig ist die hohe Cellobiaseaktivität von *Euzetes seminulum* und *Liacarus subterraneus*, die um den Faktor 4 bzw. sogar 8 über vergleichbaren Werten anderer Oribatidenarten liegt. Da die natürliche Funktion dieser Carbohydrase zumeist mit dem letzten Schritt des Celluloseabbaus in Verbindung gebracht wird, bot sich eine Ausweitung der Untersuchungen hinsichtlich der Hydrolyse pflanzlicher Zellwandbestandteile geradezu an (Tab. 1).

Als Testsubstrat wählte ich zunächst die wie Cellobiose ebenfalls β-glucopyranosidisch aufgebaute wasserlösliche Carboxymethylcellulose. Es zeigte sich, daß nur Makrophyto-

phagen und Nichtspezialisten dieses Substrat zu spalten vermögen. Da eine hypothetische Zwischenstufe des Celluloseabbaus wie CMC von einigen Arten hydrolisiert werden konnte, wurde als nächster Schritt die Spaltung reiner Cellulose (Serva APX) versucht. Der Test verlief meist eindeutig negativ. Nur *Euzetes seminulum* erbrachte immer eine positive Reaktion. Die im gleichen Zeitraum aus Cellobiose, CMC und Cellulose von

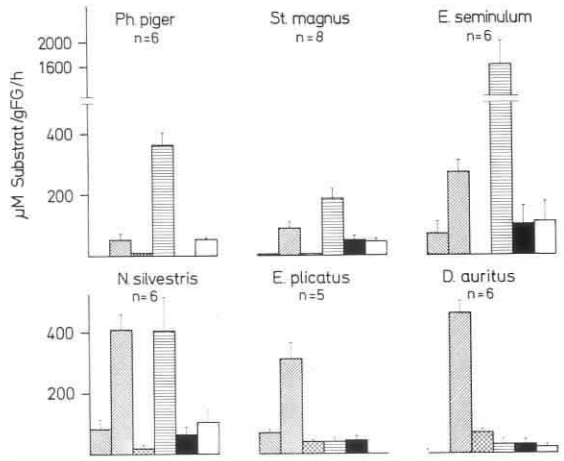

Abb. 2: Vergleich der Spaltungsgrößen verschiedener Substrate durch Homogenate ökologisch repräsentativer Oribatidenarten

Saccharose — Maltose — Trehalose — Cellobiose
α-Melibiose — Lactose

Euzetes seminulum freigesetzten Glucosemengen stehen in einem Verhältnis von 100 : 1,5 : 0,2.

Als weiteres Substrat fand Pektin, ein im wesentlichen aus D-Galakturonsäure aufgebautes Polysaccharid der Mittellamelle der Pflanzenzelle als Substrat Verwendung. Qualitative dünnschichtchromatographische Auftrennungen der Inkubationsansätze zeigten, daß nur Nichtspezialisten und Makrophytophagen Pektin zu hydrolisieren vermögen (Abb. 3).

Zunächst ebenfalls nur dünnschichtchromatographisch wurde aus der Gruppe der Hemicellulosen die Hydrolyse von Xylan überprüft. Nachdem diese Vorversuche ein positives Ergebnis erbrachten, ergaben Mikrobestimmungen des Hydrolysenendproduktes Xylose, daß Nichtspezialisten und Makrophytophagen Xylansubstrat sogar in beträchtlichem Maße zu spalten vermögen. Die durch »Xylanase«-Aktivität freigesetzten Xylosemengen liegen nur um den Faktor 1–3 unter den aus Maltose hydrolisierten Glucosewerten.

Vorliegende Ergebnisse zeigen, daß alle Homogenate ökologisch repräsentativer Oribatidenarten einen durch quantitative und qualitative Unterschiede gekennzeichneten Carbohydrasensatz zur Hydrolyse der wichtigsten pflanzlichen Kohlenhydrate enthalten. Ob die mitgeteilten Enzymaktivitäten bakterischen oder tierischen Ursprungs sind, ist für die angestrebte ökophysiologische Interpretation dabei weniger wichtig. Zwanglos lassen sich unterschiedliche Carbohydrasengarnituren mit entsprechenden Ernährungsweisen korrelieren. Makrophytophage und nichtspezialisierte Oribatiden erscheinen durch das Vorkommen von Cellobiase, Carboxymethylcellulase, Cellulase, Xylanase und Pektinase an ihre Laubstreunahrung gut angepaßt. Das Überwiegen von Maltase- und α-Amylase-Aktivität läßt für mikrophytophage Oribatiden dagegen eine bevorzugte Hydrolyse von Bakterienschleim, Algenaufwuchs sowie Zellinhaltsstoffen von Pilzhyphen vermuten. Da die beiden hinsichtlich der Nahrungswahl noch nicht untersuchten Arten *Tritegeus bifidatus* und *Eupelops plicatus* ein ähnliches Carbohydrasenmuster wie die Mikrophytenfresser zeigen, werden sie diesem Typ zugeordnet. Die wenigen in der Literatur bekannt gewordenen

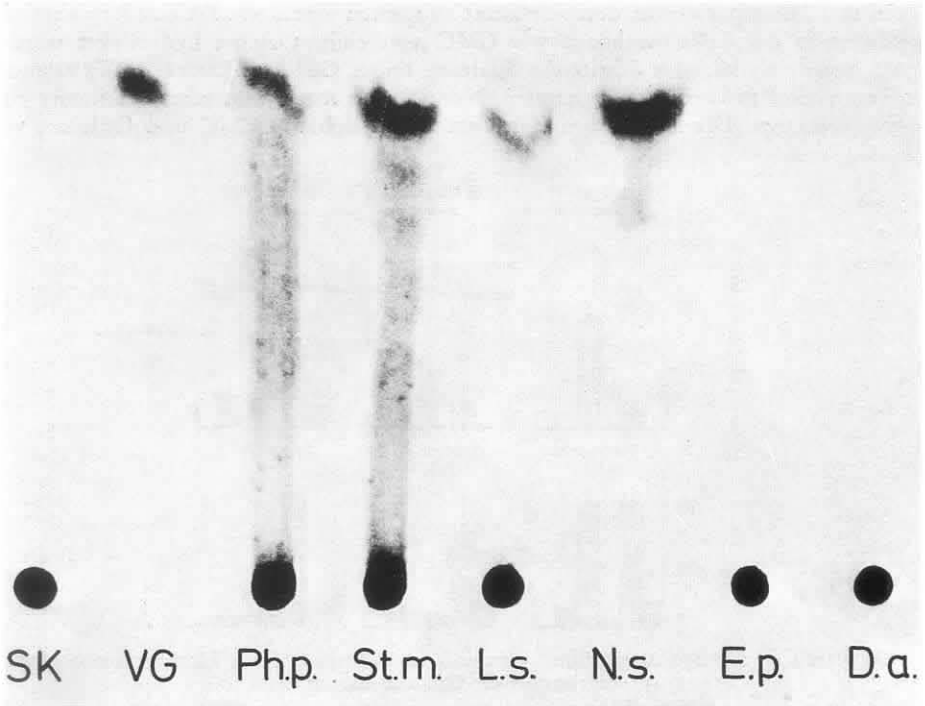

Abb. 3: Dünnschichtchromatographische Auftrennung von Pektinhydrolysaten sechs verschiedener Oribatidenarten. SK = Substratkontrolle Pektin, VG = Vergleich D-Galakturonsäure.

Tab. 1: Carbohydrasenaktivität ökologisch repräsentativer Oribatidenarten.

Substrate	Makro-phytophagen		Nicht-spezialisten			Mikro-phytophagen		
	Ph. p.	St. m.	L. s.	E. s.	N. s.	A. tr.	D. a.	E. p.
α-Glucoside								
Saccharose	—	+	—	+	+	—	—	+
Maltose	+	+	++	+++	+++	++	+++	+++
Trehalose	+	+	+	—	+	++	++	+
β-Glucoside								
Cellobiose	++	++	+++	+++	++	+	+	+
Salicin	+	—	+	++	+	+	+	+
α-Galaktosid								
Melibiose	—	+	+	+	+	+	+	+
β-Galaktosid								
Lactose	+	+	++	+	++	—	+	(—)
Polysaccharide								
Stärke	+	++	+++	++	+++	++	+++	+++
CMC	++	++	+++	+++	+++	—	—	—
Cellulose	—	—	(+)	+	—	—	—	—
Galaktan	—	—	—	—	—	—	—	—
Xylan	++	++	+++	++	+++	—	—	—
Pektin	+++	+++	+++	+++	+++	—	—	—

Befunde zur Carbohydrasenausstattung von Milben lassen sich zwanglos den vorliegenden Ergebnissen zuordnen. Die phytophage Spinnmilbe *Tetranychus urticae* (Acari, Trombidiformes) besitzt eine im wesentlichen den mikrophytophagen Oribatiden vergleichbare Enzymgarnitur (1). LUXTON (in prep.) wird demnächst mit qualitativ-dünnschichtchromatographischer Methodik vorliegende Untersuchungen für ein weitgehend anderes Artenspektrum von Oribatiden bestätigen.

Schrifttum

1. EHRHARDT, P., und G. VOSS: Die Carbohydrasen der Spinnmilbe *Tetranychus urticae* (Acari, Trombidiformes, Tetranychidae). Experientia *17*, 307 (1961). – 2. HOEBEL-MÄVERS, M.: Funktionsanatomische Untersuchungen am Verdauungstrakt der Hornmilben (Oribatei). Diss. Braunschweig 1967. – 3. KOLLER, A., and H. NEUKOM: Detection of oligogalacturonic acids by thin-layer chromatography. Biochim. Biophys. Acta *83*, 366–367 (1964). – 4. ROE, J. H., and E. W. RICE: A photometric method for the determination of free pentoses in animal tissues. J. biol. Chem. *173*, 507–512 (1948). – 5. SCHUSTER, R.: Der Anteil der Oribatiden an den Zersetzungsvorgängen im Boden. Z. Morph. Ökol. Tiere *45*, 1–33 (1956). – 6. STAHL, E., und U. KALTENBACH: Spurenanalyse von Zuckergemischen auf Kieselgur-G-Schichten. J. Chromatogr. *5*, 351–355 (1961). – 7. ZINKLER, D.: Vergleichende Untersuchungen zum Wirkungsspektrum der Carbohydrasen von Collembolen (Apterygota). Verh. Dt. Zool. Ges., Innsbruck 1968, 640–644 (1969). – 8. ZINKLER, D.: Carbohydrasen streubewohnender Collembolen und Oribatiden. IV. Colloquium Pedobiologiae, Dijon 1970. Ann. Zool. Ecol. Anim. (im Druck).

Dr. DIETMAR ZINKLER, Ruhr-Universität Bochum, Lehrstuhl für Tierphysiologie, 463 Bochum-Querenburg, Postfach 2148